

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
14. Oktober 2004 (14.10.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2004/087946 A2**

550929

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12Q 1/48

(74) Anwalt: VOIGT, Wolf-Rüdiger; Alter Markt 1-2, 06108  
Halle (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2004/000674

(22) Internationales Anmeldedatum:  
30. März 2004 (30.03.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
103 14 965.1 2. April 2003 (02.04.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): BIOSCORA GMBH [DE/DE]; Deutscher Platz 5 c,  
04103 Leipzig (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): VASILETS, Larissa  
[RU/DE]; Lessingstrasse 10, 06179 Teutschenthal (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,  
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,  
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,  
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,  
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,  
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,  
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,  
GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,  
TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT,  
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,  
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR THE DETECTION OF POST-TRANSLATIONAL MODIFICATION ACTIVITIES AND DEVICE  
SYSTEM FOR CARRYING OUT SAID METHOD

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM NACHWEIS POSTTRANSLATIONALER MODIFIZIERUNGSAKTIVITÄTEN UND  
GERÄTESYSTEME ZUR REALISIERUNG DES VERFAHRENS

(57) Abstract: The invention relates to a method for the qualitative detection of post-translational modification activities in a small liquid sample from organism cells or test chemicals. Phosphorylation/dephosphorylation of proteins by kinases and phosphatases is an example of a post-translational modification. The method is characterised in that protein fragments or polypeptides are synthesised as sensors. The above comprise moieties (1) and (2), containing charged amino acid groups and a recognition site with one or more modification group(s) (X). The sensor has a specific electrostatic potential distribution and a dipole moment. A modification of the sensors occurs on addition of enzymes, associated with a shift in the molecular electrostatic potential distribution and a change in the dipole moment. The potential shift is a determinant for post-translational modification activity. Several device systems are disclosed for the practical carrying out of the method. The method provides a rapid, highly sensitive and effective method for the detection of various types of post-translational activity, in particular, suitable for biological multi-detection systems (biochips and high throughput screening) and finds application in particular to the development of pharmaceuticals, medical diagnostics, basic research and environmental protection.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum qualitativen Nachweis der posttranslationalen Modifizierungsaktivitäten in einer kleinen flüssigen Probe aus Zellen des Organismus oder mit Test-Chemikalien. Als Beispiel einer posttranslationalen Modifizierung sei die Phosphorylierung-Dephosphorylierung der Proteine durch Kinasen und Phosphatasen genannt. Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass im Sinne eines Sensors Proteinfragmente bzw. Polypeptide synthetisiert werden. Diese bestehen aus Moieties 1 und 2, welche geladene Aminosäurereste enthalten und eine Recognition Site, welche einen oder mehreren Modifizierungsrest(e) (X) besitzt. Somit besitzt der Sensor eine spezifische elektrostatische Potentialverteilung und ein Dipolmoment. Durch Zugabe von Enzymen erfolgt eine Modifizierung des Sensors, was mit Verschiebung der molekularen elektrostatischen Potentialverteilung und Veränderung des Dipolmoments verbunden ist. Die Potentialverschiebung ist ein Nachweis der posttranslationalen Modifizierungsaktivitäten. Verschiedene Gerätesysteme werden zur praktischen Umsetzung des Verfahrens vorgeschlagen. Die Erfindung stellt ein schnelles, hochsensibles und effektives Verfahren zum Nachweis der verschiedenen Typen der posttranslationalen Aktivitäten dar, daß besonders im Bereich der biologischen Multidetektionssysteme (Biochips bzw. "high-throughput screening") geeignet ist und wird hauptsächlich bei der Entwicklung von Pharmaka, medizinische Diagnostik. Grundlagenforschung und Umweltschutz zur Anwendung kommen.

WO 2004/087946 A2



**Veröffentlicht:**

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*